

## **EXHIBIT 2**

【書類名】刊行物等提出書

【提出日】平成18年1月11日

【あて先】特許庁長官 殿

【事件の表示】

【出願番号】平成6年特許願第511426号

【提出者】

【住所又は居所】 省略

【氏名又は名称】 省略

【提出する刊行物等】

刊行物1: JBC 261, 2 (1986) 928-933

刊行物2: JBC 273, 32 (1998) 20417-20424

【提出の理由】

1) 出願人は、平成17年11月24日付け意見書において、補正後の請求項14にかかるポリペプチドは、引用文献1及び引用文献2に開示されておらず、特許法第29条第1項に該当しないことを主張しています。しかし、精製ヒトPSMを開示した上記刊行物1により、補正後の請求項14及び15は、特許法第29条第1項第3号に該当し、特許を受けることができないものであると思料いたします。

また、精製したタンパク質が取得されている以上、常法により部分アミノ酸配列を特定し、その情報に基づき遺伝子クローニングを行い、核酸を得ること、前記核酸をプロモーターに動作可能に連結すること、前記核酸をベクターに組み込むこと、前記ベクターを含むホストを得ること、及び前記ホスト・ベクター系を用いてポリペプチドを製造することは、当業者が容易に発明をすることができたものです。したがって、補正後の請求項1から13は特許法第29条第2項に該当し、特許を受けることができないものであると思料いたします。

そして、精製したタンパク質が取得されている以上、常法により前記タンパク質を用いて動物を免疫し、モノクローナル抗体を取得することは、当業者が容

提出	印刷	年月日	不明
市	番	号	— / —



易に発明をすることができたものです。したがって、補正後の請求項16から25は特許法第29条第2項に該当し、特許を受けることができないものであると思料いたします。

2) 精製ヒトPSMが刊行物1に開示されていることについてご説明いたします。

刊行物1は、ヒト空腸粘膜刷子縁体から精製したプテロイルポリグルタミン酸塩加水分解酵素を開示しています。

刊行物2は、ヒト空腸刷子縁体膜から、引用文献2に記載のヒト空腸粘膜の細胞内リソソームカルボキシペプチダーゼとは異なるFGCPを精製した文献として刊行物1を引用しています(20417頁左欄下から2行目-右欄8行目)。つまり、刊行物1に開示された精製タンパク質プテロイルポリグルタミン酸塩加水分解酵素はヒト膜型FGCPであるということです。そして、ブタFGCP、ヒトPSM、及びラットNAALADaseは、異なる種と組織において同じ遺伝子(GCPII)が発現したタンパク質であることが記載されています(20417頁右欄下から9行目-5行目、20422頁左欄下から4行目-右欄4行目、)。つまり、FGCP、PSM、及びNAALADaseは、同じ遺伝子(GCPII)が発現した同一タンパク質につけられた名前であるということです。

以上より、刊行物1に開示された精製タンパク質はヒトPSMであり、本願に開示しているヒト由来タンパク質と同一物であることは明らかなです。

以上

刊行物 1 抄訳

(928頁左欄1行目-5行目)

プテロイルポリグルタミン酸塩加水分解酵素が、ヒト空腸粘膜刷子縁体から精製トリトンX-100で可溶化され、有機水銀塩アフィニティークロマトグラフィー、DEAEセルロースクロマトグラフィー及びゲル濾過を用いて約5,000倍に精製された。

(929頁左欄 表1)

刷子縁体プテロイルポリグルタミン酸塩加水分解酵素の精製

画分	タンパク質 mg	比活性 ミリユニット /mg	精製因子	収率 %
粘膜ホモジネート	6160	0.039	1	100
刷子縁体のトリトンX-100可溶化	124	0.63	16	32
有機水銀塩セファロース	60.5	1.12	2.9	28
DEAEセルロース	1.3	31.5	808	21
バイオゲルA-1.5m	0.14	191.0	4900	10

刊行物 2 抄訳

(20417頁左欄下から2行目-右欄8行目)

我々の研究室(2)は、ヒト空腸刷子縁体膜から、連続して末端グルタミン酸を放出し、6.5より大きいpHで安定な、亜鉛活性化エクソペプチダーゼとして、フォリルポリル-ガンマー-グルタメート、カルボキシペプチダーゼ(FGCP)を精製した。我々は、これとは別に、フォリルポリル-ガンマー-グルタメ

ートを4. 5の至適pHでエンドペプチダーゼ様式で切断する、ヒト空腸粘膜の細胞内リソゾームカルボキシペプチダーゼを同定した。これはパラ-ヒドロキシメルクリベンゾエートにより完全に阻害されるという点で膜FGCP（提出者注：刊行物1の酵素をさしている）とは区別される（3）。

（20417頁右欄16行目－35行目）

他の2つのタンパク質（ヒト前立腺特異的膜抗原（PSM）及びラット脳N-アセチル化された- $\alpha$ 結合-酸性ペプチダーゼ（NAALADase））の最近偶然見つけた説明によって、ブタ空腸FGCPの特徴づけの試みが促進された。2つのタンパク質をコードするcDNAは87%核酸配列、85%アミノ酸配列が同一であり、同じ酵素の相同物であることが明らかである。以前、我々は、これらのcDNAそれぞれで形質転換したPC3細胞が、NAALADaseのNAAG加水分解活性を持つことを示した。他の人が、ヒトPSMcDNAで形質転換したPC3細胞が、ヒト空腸FGCP（2）と同様のエクソペプチダーゼ活性メカニズムでフォリルポリル-ガンマー-グルタメートの加水分解ができることを見出した。NAAGとフォリルポリル-ガンマー-グルタメートの加水分解が同じ分子（PSM）によるもの知見により、ヒトPSMとラット脳NAALADaseをIUBMBの同一承認名、グルタミン酸カルボキシペプチダーゼII（GCP II；EC 3. 4. 17. 21）とすることが推奨された。

（20417頁右欄下から9行目－5行目）

ブタFGCP、ヒトPSM及びラットNAALADaseの、広範な分子ホモロジーと触媒能は、3つのタンパク質が異なる種と組織における同じ遺伝子の発現であるとの考えと一致することを見出した。

（20422頁左欄下から4行目－右欄4行目）

最近の分析により、ヒト前立腺PSMとラット脳NAALADaseはペプチダーゼM28ファミリー（EC 3. 4. 17. 21）の1つのタイプII糖タンパク質に分類された。広範なアミノ酸の一致、共通の構造モチーフ、同一の5つの

共触媒亜鉛結合アミノ酸及び4つの推定の基質結合塩基性アミノ酸の保存は、F  
GCPはGCP I I遺伝子（図1）のブタ相同物由来であることを示唆する。

（20423頁右欄 参考文献）

- 2 チャンドラーC. J.、ワング T. T. Y.、ハルステッドC. H.  
（1986）ジャーナル バイオロ ケム 261, 928-933
- 3 ワングT. T. Y.、チャンドラーC. J.、ハルステッドC. H.  
（1986）ジャーナル バイオロ ケム 261, 13551-13555

[Name of Document] Prior Art Document List  
[Date of Submission] January 11, 2006  
[Directed to] Commissioner, Japan Patent Office  
[Indication of Case]  
[Application No.] Japanese Patent Application No. 6-511426  
[Submitter]  
[Address] Omitted  
[Name] Omitted

**[List of Publications Submitted]**

Publication 1: JBC 261, 2 (1986) 928-933

Publication 2: JBC 273, 32 (1998) 20417-20424

**[Reasons for Submission]**

1) The applicant argued, in the Written Argument dated November 24, 2005, that the polypeptide recited in the amended claim 14 is not disclosed in either Reference 1 or Reference 2, and cannot be rejected under Section 29 (1) of the Patent Law. However, the amended claims 14 and 15 are considered unpatentable under Section 29 (1) (iii) of the Patent Law over the above Publication 1, which discloses a purified human PSM.

Further, since a purified protein has been acquired, it would have been obvious for a person skilled in the art to specify a partial amino acid sequence by a conventional method, to perform gene cloning based on the information, to acquire a nucleic acid, to operably connect the nucleic acid to a promoter, to incorporate the nucleic acid in a vector, to acquire a host including the vector, and to produce a polypeptide using the host-vector system. Therefore, the amended claims 1 to 13 are considered unpatentable under Section 29 (2) of the Patent Law.

Furthermore, since a purified protein has been acquired, it would have been obvious for a person skilled in the art to immunize an animal using the protein by a conventional method and acquire a monoclonal antibody. Therefore, the

amended claims 16 to 25 are considered unpatentable under Section 29 (2) of the Patent Law.

2) A purified human PSM is disclosed in Publication 1. This point will be explained below.

Publication 1 discloses pteroylpolyglutamate hydrolase purified from a human jejunal mucosal brush borders.

Publication 2 cites Publication 1, which describes purifying FGCP from human jejunal brush-border membranes. The FGCP described in Publication 1 differs from intracellular lysosomal carboxypeptidase in human jejunal mucosa described in Reference 2 (page 20417, left column, line 2 from the bottom to right column, line 8). In other words, the purified protein pteroylpolyglutamate hydrolase disclosed in Publication 1 is a human membrane-type FGCP. The pig FGCP, human PSM and rat NAALADase, are proteins expressed from the same gene (GCP II) in different species and tissues (page 20417, right column, lines 9 to 5 from the bottom, and page 20422, left column, line 4 from the bottom, right column, line 4). That is, FGCP, PSM and NAALADase are names that are assigned to the same protein expressed from the same gene (GCP II).

As described above, it is clear that the purified protein disclosed in Publication 1 is human PSM and the same as the human-derived protein disclosed in the present application.